مطالعهٔ محتوای ساپونین در بخش‌های هوایی و ریشهٔ سه گونه از جنس *Silene* L. (تیرهٔ میخکیان)

رویا کرمیان* و فاطمه قاسملو

دریافت: ۱۳۹۲/۴/۱۳/ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۱۸

گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

*مسئول مکاتبات: r_karamian@basu.ac.ir

چکیده. ساپونین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در بسیاری از گیاهان و برخی جانوران یافت می‌شوند. این ترکیبات گلیکوزیدهایی با وزن مولکولی زیاد هستند و یک گروه قندی متصل به آگلیکون تری‌ترپنی یا استروئیدی دارند. بسیاری از ساپونین‌ها خاصیت پاک‌کنندگی دارند و در آب کف پایدار ایجاد می‌کنند. جنس *Silene* L. با بیش‌از ۷۰۰ گونه یکی از بزرگترین جنس‌های تیرهٔ میخکیان است که اغلب در نیمکرهٔ شمالی گسترش دارند. ترکیبات ساپونینی از متابولیت‌های ثانویهٔ فراوان موجود در گیاهان این جنس هستند. در پژوهش حاضر، محتوای ساپونین کل ریشه و بخش هوایی به صورت کمی و کیفی در سه گونه از جنس *Silene*، *S. ginodioica* Ghaz. subsp. *Pendunculari*s (Fenzl ex Boiss.) Melzh. و *S. spergulifolia* (Willd.) M. Bieb. و *S. swertiifolia* Boiss. به روش‌های اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی لایهٔ نازک تحت مطالعه قرار گرفت. در این بررسی ۵ فرکشن مختلف از هر بخش گیاه به دست آمد که فرکشن ۱ در هردو بخش و در هر سه گونه حاوی بالاترین مقدار ساپونین بود. از سوی دیگر، مقدار ساپونین استخراج‌شده از ریشه‌ها زیاد بود. همچنین کروماتوگرافی عصاره‌ها بر روی صفحات TLC لکه‌های ساپونینی با مقادیر R_f مختلف را آشکار ساخت.

واژه‌های کلیدی. اسپکتروفتومتری، ساپونین، کروماتوگرافی لایه نازک، *Silene*

The study of saponin content in the aerial parts and roots of three *Silene* L. species (Caryophyllaceae)

Roya Karamian* and Fatemeh Ghasemlou

Received 04.07.2013/ Accepted 09.11.2014

Department of Biology, Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
*Correspondent author: r_karamian@basu.ac.ir

Abstract. Saponins are secondary metabolites that are found in many plants and some animals. These compounds are high molecular weight glycosides, consisting of a sugar moiety linked to a triterpene or steroid aglycone. Many saponins have detergency properties and give stable foam in water. The genus *Silene* L. with more than 700 species is one of the largest genera of the family Caryophyllaceae mainly distributed in northern hemisphere. Saponins are one of the important secondary metabolites in the members of the genus. Quantitative and qualitative study of the saponins in the aerial parts and roots of three *Silene* species, namely *S. ginodioica* Ghaz. subsp. *Pendunculari*s (Fenzl ex Boiss.) Melzh., *S. spergulifolia* (Willd.) M. Bieb. and *S. swertiifolia* Boiss. were carried out by spectrophotometry and TLC methods. In this study, 5 fractions were obtained from each plant part and in both parts of the three species, fraction 1 contains the highest amounts of saponins. On the other hands, root extracts have high amounts of saponins. In addition, thin layer chromatography (TLC) of the extracts revealed some saponins spots with different R_f.

Keywords. spectrophotometry, saponins, thin layer chromatography, *Silene*

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

مقدمه

فرآورده‌هایی که به صورت شیمیایی سنتز می‌شوند، اغلب بر محیط زیست و بدن جانداران اثرات نامطلوبی می‌گذارند. کاربرد فرآورده‌های طبیعی در صنایع مختلف مانند صنایع غذایی، تجاری، آرایشی، دارویی، کشاورزی و غیره امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته است. عوارض سوء ایجاد شده توسط داروهای شیمیایی ازیک‌سو و وجود مواد مؤثره دارویی و پایین بودن سم این ترکیبات گیاهی از سوی دیگر، اهمیت گیاهان دارویی را دوچندان کرده است. بنابراین استفاده از گیاهان به‌عنوان یکی از منابع مهم تجدیدشدنی، غیرقابل‌چشم پوشی نیست (Guclu-Ustunda & Mazza, 2007). درمیان متابولیت‌های ثانویه ساپونین‌ها گروهی از ترکیبات شیمیایی مهم هستند که در بسیاری از گیاهان و برخی جانوران یافت می‌شوند (Hostettmann & Marston, 1995; Lacaille-Dubois & Wagner, 2000; Mahato & Garai, 1998; Riguera, 1997). ساختار شیمیایی ساپونین‌ها شامل یک هستهٔ هیدروفوبیک (ساپوژنین) است که توسط یک زنجیرهٔ قندی هیدروفیل متصل به آگلیکون تری‌ترپنی یا استروئیدی احاطه کرده است. بسته به نوع ژنین، ساپوژنین‌ها را می‌توان به سه دسته گلیکوزیدهای تری‌ترپنوئیدی، گلیکوزیدهای استروئیدی و گلیکوزیدهای آلکالوئیدی-استروئیدی تقسیم کرد. این ترکیبات با یکی از ساختارها یا هر سه ساختار در برخی گونه‌های گیاهی یافت می‌شوند. اهمیت این ترکیبات به این دلیل است که تعدادی از آنها فعالیت ضدمیکروبی مؤثری دارند و اغلب در مقادیر زیاد در گیاهان سالم یافت می‌شوند، این مولکول‌ها به‌عنوان حفاظت‌کننده‌های گیاهی ضدمیکروبی شناخته شده‌اند (Osbourn, 1996a; Osbourn, 1996b; Price *et al*., 1987; Schonbeck & Schlosser, 1976).

گیاهان تیرهٔ میخک سرشار از ترکیبات ساپونینی هستند. جنس *Silene* L. با بیش‌از ۷۰۰ گونه، یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های تیرهٔ میخکیان است که اغلب در نیمکرهٔ شمالی گسترش دارند. این جنس بیش‌از ۱۰۰ گونه در ایران دارد که در ۲۱ بخش طبقه‌بندی می‌شوند (قهرمان، ۱۳۷۳؛ نجاتی عدالتیان، ۱۳۸۹). این جنس در شرق مدیترانه، آسیای مرکزی، ایتالیا، ترکیه، ایران، عراق، روسیه، انگلستان و اسپانیا انتشار یافته است (Biossier, 1884; Anzalone, 1982; Davis, 1967; Komarov, 1936; Melzheimer, 1988; Tutin, 1964; Zohary, 1966). آنها گیاهانی علفی یک‌ساله یا چندساله و پایا، گاهی در پایهٔ چوبی، با کاسهٔ لوله‌ای، فشرده یا در بالا وسیع و گشاده، مجهز به رگبرگ‌های برجسته و دارای پنج دندانه هستند. گلبرگ‌های جام آنها پنج عدد، با ناخنک، بدون زاویه و گلوی آنها دارای تاجی از فلس‌هاست. پرچم‌ها ده عدد، خامه سه عدد و کپسول در پایین دارای سه‌خانه یا فقط یک‌خانه، در انتها دارای شش دندانه محتوی دانه‌های متعدد و پوشیده از برجستگی‌های غده‌ای‌شکل است (قهرمان، ۱۳۷۳).

گیاهان این جنس به دلیل داشتن phyto-ecdysteroids, ecdysteroids، ساپونین و تری‌ترپنوئیدها حائز اهمیت هستند (Meng, 2001; Jurgens *et al.,* 2002). هدف این مطالعه بررسی کمی و کیفی محتوای ساپونین در بخش‌های هوایی و ریشهٔ سه گونه از جنس *Silene* L. *S. swertiifolia* Boiss., *S. spergulifolia* (Willd.) M. Bieb., *S. gynodioica* Ghaz. subsp. *pendunclaris* (Fenzl ex Boiss.) Melzh. است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

سه گونه از جنس *Silene* L. (*S. swertiifolia* Boiss., *S. spergulifolia* (Willd.) M. Bieb., *S. gynodioica* Ghaz. subsp. *pendunclaris* (Fenzl ex Boiss.) Melzh. از استان‌های آذربایجان شرقی، اردبیل و خراسان جمع‌آوری شدند و پس‌از انتقال به هرباریوم دانشکدهٔ علوم دانشگاه بوعلی سینا، با استفاده از منابعی مانند فلورا ایرانیکا شناسایی شدند (جدول ۱). بخش‌های هوایی و ریشهٔ گونه‌های تحت مطالعه، در دمای اتاق و در سایه خشک شدند و در مطالعات بعدی ازآنها استفاده شد.

تعیین اندیس کف‌کنندگی ساپونین‌ها

۱۰۰ میلی‌گرم از نمونهٔ گیاهی پودرشده در ۱۰ میلی‌لیتر آب جوش حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. پس‌ازسرد شدن مخلوط حاصل صاف و از آن محلول‌هایی با رقت‌های یک تا ده میلی‌گرم در میلی‌لیتر در سه تکرار

تهیه شد. سپس هریک از لوله‌ها ۱۵ ثانیه درجهت طولی ورتکس شد و درنهایت ارتفاع کف حاصل اندازه‌گیری گرفته شد (World Health Organization, 1998).

جدول ۱- مشخصات گونه‌های مورد مطالعه از جنس *Silene*

Table 1. Chracteristics of the studied *Silene* species.

شماره هرباریومی	ارتفاع (متر)	محل جمع‌آوري	گونه
۲۲۲۲۲	۱۷۹۰	آذربایجان شرقی: تبریز به اهر، ۸۵ کیلومتر به اهر	*S. ginodioica* subsp. *peduncularis*
۲۱۲۱۸	۱۸۰۰	اردبیل: خلخال	*S. spergulifolia*
۲۱۲۲۶	۱۲۳۰	خراسان: بجنورد، دوراهی راز- جردگان	*S. swertiifolia*

استخراج ساپونین‌های تری‌ترپنوئیدی

بدین‌منظور ۲ گرم پودر خشک گیاهی در دستگاه سوکسله با ۱۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد به مدت ۲ ساعت عصاره‌گیری شد. عصاره‌های حاصل تحت خلأ در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد تغلیظ شدند. سپس مواد ساپونینی و غیرساپونینی عصاره‌های اتانولی ۵۰ و ۷۰ درصد در یک قیف جداکننده توسط ۱۵ میلی‌لیتر دی‌اتیل‌اتر و ۱۰ میلی‌لیتر *n*-بوتانول جدا شد. درنهایت بخش‌های آبی و بوتانولی و عصارهٔ حاصل از اتانول ۱۰۰ درصد تحت خلأ تغلیظ شدند و سپس مورد سنجش قرار گرفتند (Sun & Pan, 2006).

مطالعهٔ کمی ساپونین‌ها

سنجش ساپونین‌ها براساس روش ابراهیم‌زاده و نیکنام صورت گرفت (Sun & Pan, 2006). برای رسم منحنی استاندارد از ساپونین Merck به‌عنوان مادهٔ استاندارد استفاده شد و منحنی در محدودهٔ بین صفر تا ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر رسم شد. از فاز نهایی عصاره ۰/۰۱ میلی‌لیتر از فرکشن‌های مختلف در لولهٔ آزمایش ریخته شد و تا تبخیر کامل حلال، در آون در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها به هر یک از آن‌ها، ۵ میلی‌لیتر معرف وانیلین ۰/۷٪ در اسید-سولفوریک ۶۵ درصد اضافه شد. این معرف ناپایدار است و باید تازه تهیه شود. پس‌از ورتکس-کردن، لوله‌ها در حمام آب گرم با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت یک ساعت تیمار شدند. سپس واکنش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب یخ متوقف و درنهایت جذب آنها در طول موج ۴۷۳ نانومتر اندازه‌گیری شد (Ebrahimzade & Niknam, 1998). محتوای ساپونین موجود در عصاره‌ها با استفاده از منحنی استاندارد برآورد و برحسب درصد وزن خشک محاسبه شد.

مطالعهٔ کیفی ساپونین‌ها به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)

فرکشن‌های مختلف استخراج‌شده بر روی صفحات آلومینیومی پوشیده از یک لایه سیلیکاژل به عنوان فاز ثابت قرار داده شد و صفحات درون تانک کروماتوگرافی که قبلاً درون آن مخلوط آمونیاک، اتانول، *n*-بوتانول (۱۰.۵:۲.۵:۷.۵) به‌عنوان فاز متحرک جهت اشباع‌شدن ریخته شده بود، قرار داده شدند (Wagner & Bladt, 1998). جهت ظهور لکه‌های ساپونینی، صفحات TLC بعد از خشک‌شدن با محلول سولفوریک اسید ۱۵ درصد اسپری شدند. درنهایت صفحات چند دقیقه در آون با دمای ۱۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند، تا رنگ لکه‌ها در نور مرئی آشکار شود (Wagner & Bladt, 1998). پس‌از ظهور لکه‌ها R_f هر یک از آنها از رابطهٔ زیر محاسبه شد:

R_f = فاصله لکه از مبدأ / فاصله حلال از مبدأ

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

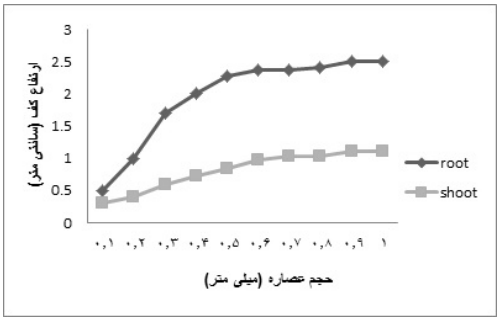
تحلیل آماری

سنجش مقدار کمی ساپونین با سه تکرار انجام شد. پس‌از اثبات وجود اختلاف معنی‌دار میان میانگین‌ها به روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA)، گروه‌بندی آنها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال $p < 0.05$ اجرا شد.

نتایج

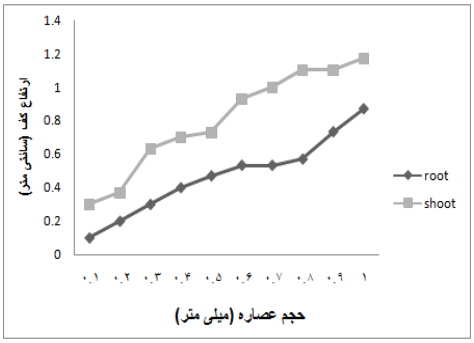
تعیین اندیس کف‌کنندگی ساپونین‌ها

با مشاهدهٔ کف پایدار در آزمون تعیین شاخص کف-کنندگی (World Health Organization, 1998) وجود ساپونین در بخش هوایی گونه‌های مختلف *Silene* ثابت شد. ارتفاع کف در لوله‌ها کمتر از ۱ یا مساوی ۱ سانتی‌متر است. با افزایش حجم عصاره (غلظت عصاره)، ارتفاع کف پایدار ایجاد شده در لوله‌ها نیز افزایش یافت. ارتفاع کف ایجادشده در لوله-های مربوط به ریشهٔ گونهٔ *S. ginodioica* برابر با ۲/۵ و در بخش هوایی برابر با ۱/۱ است که نشان می‌دهد شاخص کف-کنندگی آن در هر دو بخش بیشتر از ۱۰۰ است (شکل ۱). ارتفاع کف ایجادشده در لوله‌های مربوط به ریشهٔ گونه‌های *S. swertiifolia* و *S. spergulifolia* کمتر از ۱، ولی ارتفاع در بخش‌های هوایی به ترتیب برابر ۱ و بیشتر از ۱ سانتی‌متر است که نشان می‌دهد شاخص کف‌کنندگی آن بیشتر از ۱۰۰ است (شکل‌های ۲ و ۳).



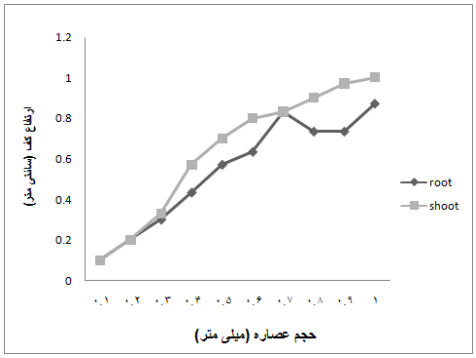
شکل ۱- مقدار کف ایجادشده براساس غلظت عصاره درگونهٔ *Silene ginodioica*.

Fig. 1. The amount of formed foam based on extract concentration in *Silene ginodioica.*



شکل ۲- مقدار کف ایجادشده براساس غلظت عصاره درگونهٔ *Silene spergulifolia*.

Fig. 2. The amount of formed foam based on extract concentration in *Silene spergulifolia.*



شکل ۳- مقدار کف ایجادشده براساس غلظت عصاره درگونهٔ *Silene swertiifolia*.

Fig. 3. The amount of formed foam based on extract concentration in *Silene swertiifolia.*

استخراج ساپونین‌های تری‌ترپنوئیدی

طی این روش ۵ فرکشن به دست آمد. فرکشن‌های حاصل از ریشهٔ هر سه گونه حاوی بیشترین مقادیر ساپونین در مقایسه با بخش‌های هوایی بودند. در گونهٔ *S. ginodioica* بیشترین مقدار ساپونین استخراج‌شده از ریشه و بخش‌های هوایی مربوط به فرکشن ۱ است (جدول ۲). در این گونه مقدار ساپونین کل در بخش‌های هوایی با ریشه برابر بود. در گونهٔ *S. spergulifolia* محتوای ساپونین کل در ریشه (۴/۶۶DW µg/ml) نسبت به بخش‌های هوایی (۳/۵ µg/ml DW) بالاتر بود. در این گونه نیز بیشترین مقدار ساپونین استخراج‌شده از ریشه و بخش‌های هوایی مربوط به فرکشن ۱ است (جدول ۳).

در گونهٔ *S. swertiifolia* نیز مانند دو گونهٔ دیگر، بیشترین مقدار ساپونین استخراج‌شده از ریشه و بخش‌های هوایی مربوط به فرکشن ۱ می‌باشد (جدول ۴). در این گونه مقدار ساپونین کل در ریشه تقریباً ۱۱ برابر بخش‌های هوایی بود. در شکل ۴ مقدار ساپونین کل استخراج‌شده از ریشه و بخش‌های هوایی میان سه گونهٔ مختلف *Silene* مقایسه شده است. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، مقدار کل ساپونین استخراج‌شده از بخش-های هوایی در سه گونهٔ *Silene* اختلاف معنی‌داری ندارد، به-طوری‌که بیشترین مقدار ساپونین کل در بخش‌های هوایی متعلق به گونهٔ *S. ginodioica* و سپس گونه‌های *S. spergulifolia* و *S. swertiifolia* است. در ریشه بیشترین مقدار ساپونین کل متعلق به گونهٔ *S. swertiifolia* می‌باشد، اما بین دو گونهٔ *S. spergulifolia* و *S. ginodioica* اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

مطالعهٔ کیفی ساپونین‌ها به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)

کروماتوگرافی لایه‌نازک عصاره‌ها، پنج لکهٔ ساپونینی را در محدوده R_f = ۰/۱۱-۰/۳۶ به رنگ‌های صورتی تا ارغوانی آشکار کرد. تصاویر کروماتوگرام مربوط به فرکشن‌های مختلف در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده‌است. در فرکشن‌های ۴ و ۵ از بخش‌های هوایی *S. ginodioica* و بخش‌های هوایی *S. spergulifolia* و *S. swertiifolia* لکهٔ مرئی مشاهده نشد. عصارهٔ خام حاصل از مرحلهٔ عصاره‌گیری واجد لکه‌های غیر ساپونینی نیز بود، اما این لکه‌ها طی بخش‌سازی در حلال‌های مختلف در مرحله آخر عصاره‌گیری حذف شدند. لکهٔ شمارهٔ ۲ در ریشه *S. spergulifolia* با R_f =۰/۳ اصلی‌ترین ترکیب ساپونینی بود (جدول‌های ۸-۵).

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

جدول ۲- محتوای ساپونین در ریشه و بخش‌های هوایی گونهٔ *Silene ginodioica*.

Table 2. Saponin content in roots and aerial parts of *Silene ginodioica*.

	شماره فرکشن	نوع فرکشن	محتوای ساپونین ریشه (µg/ml DW)	محتوای ساپونین بخش‌هاي هوايي (µg/ml DW)
اتانول ۵۰%	۱	اتانول ۵۰٪	۲/۲۳±۰/۱۵	۲/۲۳±۰/۱۱
	۲	اتانول ۵۰٪- بوتانول	۱/۵۵±۰/۱۳	۱/۱۵±۰/۰۳
اتانول ۷۰%	۳	اتانول ۷۰٪	۰/۶±۰/۱۵	۰/۶۲±۰/۰۳
	٤	اتانول ۷۰٪- بوتانول	۰/۲۸±۰/۰۱	۰/۳۶±۰/۰۱
اتانول ۱۰۰%	۵	اتانول خالص	۰/۰۶±۰/۰۱	۰/۴۲±۰/۰۱
جمع کل			۴/۷۲	۴/۷۸

اعداد (±) بیانگر انحراف معیار است.

جدول ۳- محتوای ساپونین در ریشه و بخش‌های هوایی گونهٔ *Silene spergulifolia*.

Table 2. Saponin content in roots and aerial parts of *Silene spergulifolia*.

	شماره فرکشن	نوع فرکشن	محتوای ساپونین ریشه (µg/ml DW)	محتوای ساپونین بخش‌هاي هوايي (µg/ml DW)
اتانول ۵۰%	۱	اتانول ۵۰٪	۱/۷۵±۰/۰۶	۱/۴±۰/۰۳
	۲	اتانول ۵۰٪- بوتانول	۰/۵۶±۰/۰۶	۰/۶۵±۰/۰۶
اتانول ۷۰%	۳	اتانول ۷۰٪	۱/۵۷±۰/۰۱	۰/۴۱±۰/۰۳
	٤	اتانول ۷۰٪- بوتانول	۰/۵۹±۰/۰۳	۰/۶۹±۰/۰۳
اتانول ۱۰۰%	۵	اتانول خالص	۰/۲±۰/۰۲	۰/۳۵±۰/۰۹
جمع کل			۴/۶۶	۳/۵

اعداد (±) بیانگر انحراف معیار است.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]

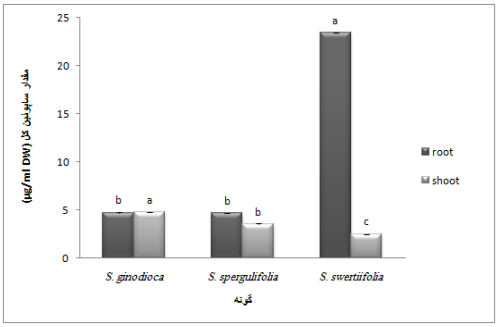
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

جدول ۴- محتوای ساپونین در ریشه و بخش‌های هوایی گونهٔ *Silene swertiifolia*

Table 4. Saponin content in roots and aerial parts of *Silene swertiifolia*.

	شماره فرکشن	نوع فرکشن	محتوای ساپونین ریشه (µg/ml DW)	محتوای ساپونین بخش‌های هوایی (µg/ml DW)
اتانول ۵۰%	۱	اتانول ۵۰٪	۷/۳۴±۰/۱۲	۱/۰۴±۰/۰۵
	۲	اتانول ۵۰٪- بوتانول	۴/۴۱±۰/۰۴	۰/۵۷±۰/۰۱
اتانول ۷۰%	۳	**اتانول ۷۰%**	**٦/٤±۰/۲۳**	**۰/٤٨±۰/۰٤**
	۴	اتانول ۷۰٪- بوتانول	۲/۵۷±۰/۱۳	۰/۲±۰/۰۱
اتانول ۱۰۰%	۵	اتانول خالص	۲/۶۹±۰/۰۶	۰/۲۱±۰/۰۲
		جمع کل	۲۳/۴	۲/۵

اعداد (±) بیانگر انحراف معیار است.



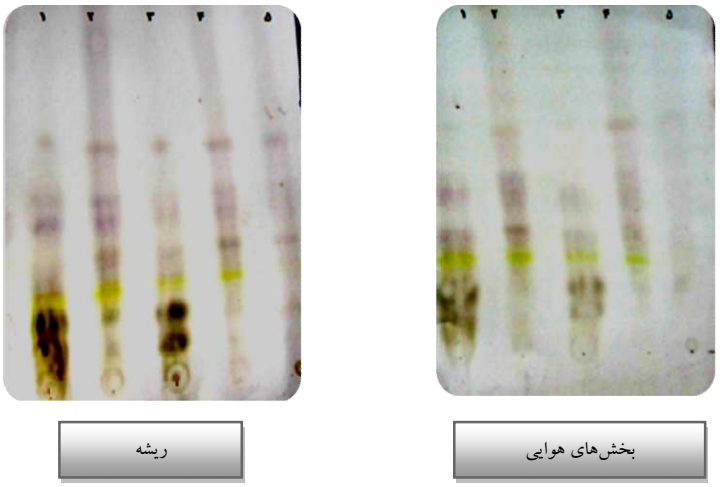
شکل ۴- مقایسهٔ مقدار ساپونین کل استخراج‌شده از ریشه و بخش‌های هوایی در سه گونهٔ *Silene*

Fig. 4. Comparsion of total saponin content extracted from roots and aerial parts among three *Silene* species.

بحث

نام ساپونین‌ها براساس فعالیت سطحی آنها انتخاب شده است، زیرا بسیاری از آنها خاصیت کف‌کنندگی دارند و در آب کف پایدار تولید می‌کنند (World Health Organization, 1998). قابلیت ایجاد کف یکی از ویژگی‌های ساپونین‌هاست که با استفاده از آن می‌توان به احتمال حضور این ترکیبات در گیاه پی‌برد. عصاره‌های استخراج‌شده سه گونهٔ *Silene* مورد بررسی، با تشکیل کفی پایدار در آزمون تعیین شاخص کف-کنندگی، وجود ساپونین را در بخش‌های هوایی و ریشه به اثبات رساندند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره میزان کف

ایجادشده در هر سه گونهٔ *Silene* افزایش می‌یابد. ازآنجاکه ساپونین‌ها در بسیاری از داروهای سنتی و گیاهان دارویی به‌خصوص در مشرق زمین یافت شده‌اند تلاش‌های بسیاری جهت تعیین ویژگی و خواص فارماکولوژیکی و زیستی آنها صورت گرفته است. در نخستین گام باید بتوان شیوهٔ استخراج مناسب و کارآمدی یافت. خالص‌سازی و پردازش ساپونین‌ها نیز نیازمند مراحل متوالی است. مراحل‌پیش تیمار ازجمله خشک‌کردن، کاهش حجم اجزا و چربی‌زدایی با استفاده از حلال‌های چربی‌دوست باعث افزایش کارآیی عصاره‌گیری می‌شود (Muir *et al.*, 2002). تحقیقات نشان داده است که انتخاب حلال بر مقدار، خلوص و غلظت اجزای ساپونین استخراج شده تأثیرگذار است (Guclu-Ustunda & Mazza, 2007). بنابراین در این روش استخراج مواد مؤثر از بخش‌های هوایی جنس *Silene* با محلول‌هایی با درصدهای مختلف اتانول انجام شد، در مرحلهٔ بعد با کاربرد دی‌اتیل‌اتر پس از چربی‌زدایی عصاره، ساپونین خالص‌تری توسط بوتانول نرمال جداسازی شد. تصاویر کروماتوگرام مرحلهٔ آخر (فاز بوتانولی) حاصل از عصاره‌گیری با این روش نیز عاری از ناخالصی بوده است. در این بررسی بهترین حلال اتانول ۵۰ درصد تشخیص داده شد که بیشترین مقدار ساپونین را استخراج کرد. نتایج نشان داد که در دو گونهٔ *S. spergulifolia* و *S. swertiifolia*، ریشه بالاترین نسبت استخراج ساپونین را نسبت به بخش‌های هوایی نشان می‌دهد. در بین سه گونهٔ تحت مطالعه، ساپونین استخراج‌شده از بخش‌های هوایی و ریشه *S. ginodioica* برابر بود. *S. swertiifolia* با محتوای ساپونین کل ۲۳/۴ در ریشه، حاوی بالاترین مقدار ساپونین نسبت به دو گونهٔ دیگر بود. روش به‌کار رفته در این پژوهش قبلاً برای جداسازی ساپونین‌ها از گیاهان نگونسار (*Cyclamen coum*) و چوبک (*Acanthophyllum squarrosum*) و گونه‌های دیگر *Silene* نیز استفاده شده و نتایج متفاوتی را حاصل کرده است. این تفاوت‌ها ممکن است ناشی از تفاوت اسکلت ساختمانی ترکیبات ساپونینی گیاهان مختلف باشد. بنابر گزارش‌های موجود سایر روش‌ها روش برای استخراج ساپونین از گیاه چوبک مناسب‌تر بوده‌اند (عسگری،۱۳۶۴)، لیکن در ساقهٔ گیاه نگونسار (احمدبیگی و صبورا، ۱۳۸۷) و بخش‌های هوایی گونه‌های مختلف *Silene* (جمالی، ۱۳۹۰)، بهترین روش ازنظر تهیهٔ محلول با محتوای ساپونین بالاتر و مواد مزاحم و غیرساپونینی کمتر، همین روش است. لکه‌های غیرساپونینی با رنگ خاکستری در روش‌ها و مراحل مختلف عصاره‌گیری با توجه به نوع حلال به صورت همراه یا جدا از لکه‌های ساپونینی در کروماتوگرام‌ها مشاهده شدند. کروماتوگرافی لایه نازک عصاره‌های سه گونهٔ *Silene* نشان داد که لکهٔ شمارهٔ ۲ در ریشه *Silene spergulifolia* با R_f =۰/۳ اصلی‌ترین ترکیب ساپونینی آن است. بدیهی است شناسایی دقیق ساپونین‌ها به روش‌های HPLC و NMR اطلاعات دقیق‌تری حاصل خواهد کرد.

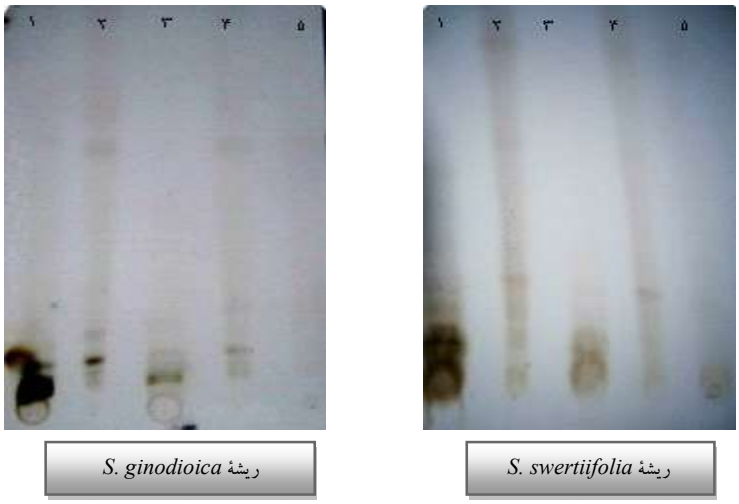


شکل ۵- کروماتوگرام مربوط به فرکشن‌های مختلف استخراج ساپونین از ریشه و بخش‌های هوایی در گونهٔ *Silene spergulifolia*.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

۱. فرکشن آبی ۵۰٪، ۲. فرکشن بوتانولی ۵۰٪، ۳. فرکشن آبی ۷۰٪، ۴. فرکشن بوتانولی ۷۰٪ ، ۵. اتانول خالص.

37/۳۷ Fig. 5. Chromatograms of different fractions of extracted saponin from roots and aerial parts of *Silene spergulifolia*.
1. 50% Aqueous fraction, 2. 50% Butanol fraction, 3. 70% Aqueous fraction, 4. 70% Butanol fraction, 5. Ethanol.



شکل ۶- کروماتوگرام مربوط به فرکشن‌های مختلف استخراج ساپونین از ریشه‌های *Silene ginodioica* و *Silene swertiifolia*.

۱. فرکشن آبی ۵۰٪، ۲. فرکشن بوتانولی ۵۰٪، ۳. فرکشن آبی ۷۰٪، ۴. فرکشن بوتانولی ۷۰٪، ۵. اتانول خالص.

Fig. 6. Chromatograms of different fractions of extracted saponin from roots of *Silene ginodioica* and *Silene swertiifolia*.
1. 50% Aqueous fraction, 2. 50% Butanol fraction, 3. 70% Aqueous fraction, 4. 70% Butanol fraction, 5. Ethanol.

جدول ۵ - مشخصات مربوط به لکه‌های ساپونینی در ریشهٔ گونهٔ *Silene spergulifolia*.

Table 5. Characteristics of saponin spots extracted from roots of *Silene spergulifolia*.

شمارهٔ لکه	R_f	رنگ لکه	شدت رنگ لکه
۱	۰/۳۶	بنفش روشن	++
۱	۰/۳۲	بنفش روشن	++
۲	۰/٤	**بنفش روشن**	+
۲	۰/۳	بنفش	+++
۲	۰/۲۷	بنفش	+++

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

جدول ۶ - مشخصات مربوط به لکه‌های ساپونینی در بخش‌های هوایی گونهٔ *Silene spergulifolia*.

Table 6. Characteristics of saponin spots extracted from aerial parts of *Silene spergulifolia*.

شماره لکه	R_f	رنگ لکه	شدت رنگ لکه
۱	۰/۲	بنفش روشن	+
۲	۰/۲	بنفش روشن	+
۳	۰/۱۱	بنفش روشن	+

جدول ۷- مشخصات مربوط به لکه‌های ساپونینی در ریشهٔ گونهٔ *Silene swertiifolia*.

Table 7. Characteristics of saponin spots extracted from roots of *Silene swertiifolia*.

شماره لکه	R_f	رنگ لکه	شدت رنگ لکه
۱	۰/۱۶	بنفش روشن	+
۱	۰/۱۹	بنفش روشن	+
۲	۰/۱۹	بنفش روشن	+

جدول ۸- مشخصات مربوط به لکه‌های ساپونینی در ریشهٔ گونهٔ *Silene ginodioic* .

Table 8. Characteristics of saponin spots extracted from roots of *Silene ginodioica*.

شماره لکه	R_f	رنگ لکه	شدت رنگ لکه
۱	۰/۲	بنفش	+
۲	۰/۲	بنفش	+
۳	۰/۲	بنفش	+

References/منابع

احمدبیگی، ز. و صبورا، ع. ۱۳۸۷. مقایسهٔ کارایی سه روش استخراج ساپونین از ساقه غده‌ای گیاه نگونسار (*Cyclamen coum*). – مجله علوم زیستی دانشگاه الزهرا ۲۲: ۲۴-۳۰.

جمالی، ر. ۱۳۹۰. مطالعهٔ ساپونین‌ها و ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی-اکسیدانی آنها در برخی از گونه‌های جنس *Silene* L. – پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا همدان.

عسگری، ژ. ۱۳۶۴. شناسایی ساپونین گیاه چوبک (*Acanthophyllum (squarrosum*) و بررسی فیتوشیمیایی آن. – پایان‌نامه دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه تهران.

قهرمان، ا. ۱۳۷۳. –کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). چاپ اول، مرکز نشر دانشگاهی تهران.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]

Anzalone, B. 1982. – Caryophyllaceae (*Silene*). In: Flora De Italia. Edagricule, USA.

Anzalone, B., Becherer, A., Ehrendorfer, F., Merxmuller, H., Metlesics, H., Montelucci, G., Rasetti, F., Ichestain, T. and Segelberg, I. 1982. – Flora De Italia (*Silene*) (ed). Edagricule, USA, 238-263.

Biossier, E. 1884. – Flora *Orientalis*: *Quartum* (Corollifreae), 1st ed, London, 537- 678.

Davis, P.H. 1967. – Flora of Turkey. Edinburg University Press, England, 2.

Ebrahimzade, H. and Niknam, V. 1998. A revised spectrophotometric method for determination of triterpenoid saponins. – Indian Drug 35: 379-381.

Guclu-Ustunda, O. and Mazza, G. 2007. Saponin: properties, applications and processing. – Critical Reviews in Food Science and Nutrition 47: 231-258.

Hostettmann, K. and Marston, A. 1995. – Saponins. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 267-268.

Jurgens, A., Witt, T. and Gottsberg, G. 2002. Flower scent composition in night flowering *Silene* species (Caryophyllaceae). – Biochemical Systematics and Ecology 30: 383- 397.

Komarov, V.I. 1936. – Centrospermae. In: Flora of USSR. Illin. Izdatles Tvo-Akademii Nauk SSSR, Moscow, Leningrad, 447-528.

Lacaille-Dubois, M.A. and Wagner, H. 2000. – Bioactive saponins from plants: an update. In: Studies in Natural Products Chemistry. Rahman, A.U. (ed). Elsevier, Amsterdam, 21: 633-687.

Mahato S.B. and Garai, S. 1998. – Triterpenoid saponins. In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Springer, New York, 1-196.

Melzheimer, V. 1988. – Caryophyllaceae II. (*Silene*). In: Flora Iranica. Rechinger KH ed., 163.

Rechinger, K.H., Moshl, V.M. and Schima-Czieka, H. 1971 – Akademiche Druk. U. Verlangsanstat, Graz, Austria.

Meng, Y., Whiting, P., Zibareva, L., Bertho, G., Girault, G.P., Lafont R. Dinan, L. 2001. Identification and quantitative analysis of the phyto-ecdysteroids from *S. pseudotites*. – Journal Chromatography 935: 309- 319.

Muir, A.D., Paton, D., Ballantyne, K. and Aubin, A.A. 2002. Process for recovery and purification of saponins and sapogenins from quinoa. US Patent 6355249.

Osbourn, A.E. 1996. Saponins and plant defense- a soap story. – Trends in Plant Science 1: 4-9.

Osbourn, A.E. 199b. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. – Plant Cell 8: 1821-1831.

Price, K.R., Johnson, I.T. and Fenwick, G.R. 1987. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs. – Critical Reviews in Food Science and Nutrition 26: 27-135.

Riguera, R. 1997. Isolating bioactive compounds from marine organisms. – Journal of Marine Biotechnology 5: 187-193.

Schonbeck, F. and Schlosser, E. 1976. – In: Physiological Plant Pathology. Springer, Berlin, 653-678.

Sun, H.K. and Pan, H.J. 2006. Immunological adjuvant effect of *Glycyrrhiza uralensis* saponins on the immune responses to ovalbumin in mice. – Vaccine 24: 1914-1920.

Tutin, T.G. 1964. – Caryophyllaceae (*Silene*). In: Flora Europaea. Cambridge, Cambridge University Press, 158-181.

Wagner, H. and Bladt, S. 1998. – Plant drug analysis. Atlas of thin layer chromatography. Springer, 306.

World Health Organization. 1998. – Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials, 46.

Zohary, M. 1966. – Flora of Palestrina (Caryophyllaceae). The Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, 81-100.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.4.6]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.29]